

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

*(Diplôme Universitaire)*

PAR

**Germain DIAZ LOPEZ**

*Né le 20 Février 1910, à Yarumal (Colombie).*

---

**De la pratique de la réaction  
de Bordet-Wassermann dans le sang  
par la méthode de M. Demanche**

---

*Président : M. TANON, Professeur.*

---

Imprimerie Lucien CARIO  
13, Passage Trubert-Bellier  
PARIS-13°

---

651

# THÈSE

POUR LE

## DOCTORAT EN MÉDECINE

*(Diplôme Universitaire)*

PAR

**Germain DIAZ LOPEZ**

*Né le 20 Février 1910, à Yarumal (Colombie).*

---

### De la pratique de la réaction de Bordet-Wassermann dans le sang par la méthode de M. Demanche

---

*Président : M. TANON, Professeur.*

---



# FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

---

LE DOYEN. . . . . M. ROUSSY.

## I. — PROFESSEURS

|                                                   | MM.                |
|---------------------------------------------------|--------------------|
| Anatomie .....                                    | ROUVIÈRE.          |
| Physiologie .....                                 | BINET.             |
| Physique médicale .....                           | STROHL.            |
| Chimie médicale .....                             | DESGREZ.           |
| Bactériologie. ....                               | DEBRÉ.             |
| Parasitologie et histoire naturelle médicale..... | BRUMPT.            |
| Pathologie médicale et générale .....             | BAUDOUIN.          |
| Pathologie chirurgicale .....                     | CHEVASSU.          |
| Anatomie pathologique .....                       | ROUSSY.            |
| Histologie .....                                  | CHAMPY.            |
| Pharmacologie et matière médicale.....            | TIFFENEAU.         |
| Thérapeutique .....                               | HARVIER.           |
| Hygiène et médecine préventive .....              | TANON.             |
| Médecine légale.....                              | BALTHAZARD.        |
| Histoire de la médecine et de la chirurgie.....   | LAIGNEL-LAVASTINE. |
| Pathologie expérimentale et comparée.....         | FIESSINGER.        |
| Hydrologie thérapeutique et climatologie.....     | Maurice VILLARET   |

|                                                                       |                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Clinique médicale .....                                               | LOEPER.<br>CARNOT.<br>CLERC.<br>Marcel LABBÉ.           |
| Hygiène et clinique de la première enfance.....                       | LEREBoullet.                                            |
| Clinique des maladies des enfants.....                                | NOBÉCOURT.                                              |
| Clinique des maladies mentales et des maladies de<br>l'encéphale..... | H. CLAUDE.                                              |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques..                     | GOUGEROT.                                               |
| Clinique des maladies du système nerveux.....                         | GUILLAIN.                                               |
| Clinique des maladies infectieuses.....                               | LEMIERRE.                                               |
| Clinique chirurgicale .....                                           | CUNÉO.<br>GOSSET.<br>GRÉGOIRE.<br>LENORMANT.            |
| Clinique ophtalmologique .....                                        | TERRIEN.                                                |
| Clinique urologique.....                                              | MARION.                                                 |
| Clinique d'accouchements .....                                        | BRINDEAU.<br>COUVELAIRE.<br>JEANNIN.                    |
| Clinique gynécologique .....                                          | PROUST.                                                 |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....                    | OMBRÉDANNE.                                             |
| Clinique thérapeutique médicale.....                                  | RATHERY.                                                |
| Clinique oto-rhino-laryngologique .....                               | LEMAITRE.                                               |
| Clinique thérapeutique chirurgicale.....                              | Pierre DUVAL.                                           |
| Clinique propédeutique .....                                          | SERGENT.                                                |
| Clinique de la tuberculose.....                                       | BEZANÇON.                                               |
| Clinique chirurgicale et orthopédique de l'adulte.                    | MATHIEU.                                                |
| Professeur sans chaire .....                                          | NOVELACQUE.<br>MULON.<br>OLIVIER.<br>VERNE.<br>MOIGNOT. |

## II. — AGREGES EN EXERCICE

### MM.

BÉNARD (H.).. Pathologie médicale.  
 BERNARD (E.). Pathologie médicale.  
 BEZANÇON (J.). Hydrologie.  
 BOULIN ..... Pathologie médicale.  
 BULLIARD ..... Histologie.  
 CATHALA ..... Pathologie médicale.  
 CHEVALLIER .. Pathologie médicale.  
 DOGNON..... Physique.  
 FEY. .... Urologie.  
 GALLIARD ..... Parasitologie.  
 GASTINEL .... Bactériologie.  
 DE GAUDART D'ALLAINES.. Pathologie  
                                   chirurgicale.  
 GAYET ..... Physiologie.  
 GIROUD. .... Histologie.  
 HAGUENAU .... Pathologie médicale.  
 HALPHEN ..... Oto-rhino-laryngologie.  
 HAZARD ..... Pharmacologie.  
 HUGUENIN.. .. Anatomie pathologique.  
 JOANNON .... Hygiène.  
 LABBÉ (Henri). Chimie biologique.  
 LACOMME .... Obstétrique.

### MM.

LANTUÉJOL .. Obstétrique.  
 LAROCHE (Guy) Pathologie médicale.  
 LEMAIRE ..... Pathologie expérimentale.  
 LEVEUF ..... Pathologie chirurgicale.  
 M<sup>lle</sup> J. LÉVY .. Pharmacologie.  
 LÉVY-VALENSI . Neuro-psychiatrie.  
 MOREAU..... Pathologie médicale.  
 MOULONGUET. . Pathologie chirurgicale.  
 MOUQUIN ..... Pathologie médicale.  
 OBERLING .... Anatomie pathologique.  
 PETIT-UTAILLIS Pathologie chirurgicale.  
 PIÉDELIÈVRE .. Médecine légale.  
 PORTES ..... Obstétrique.  
 RICHET ..... Physiologie.  
 SANNIÉ ..... Chimie biologique.  
 SÉNÈQUE ..... Pathologie chirurgicale.  
 TROISIER ..... Pathologie expérimentale.  
 TURPIN ..... Pathologie médicale.  
 VIGNES ..... Obstétrique.  
 WILMOTH .... Pathologie chirurgicale.

## III. — AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE pour le Service des Examens

### MM.

ALGLAVE ..... Pathologie chirurgicale.  
 BUSQUET ..... Pharmacologie.  
 CHAILLEY-BERT Physiologie.

### MM.

LÉROUX. .... Anatomie pathologique.  
 NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.  
 ZIMMERN .... Physique.

#### IV. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent

| MM.            |                        | MM.           |                                   |
|----------------|------------------------|---------------|-----------------------------------|
| ABRAMI .....   | Clinique médicale.     | BROCC. ....   | Clinique chirurgicale.<br>(suite) |
| ALAJOUANINE .  |                        | JADENAT ..... |                                   |
| AUBERTIN ....  |                        | GATELLIER ... |                                   |
| BRULE .....    |                        | HEITZ-BOYER.. |                                   |
| CHIRAY .....   |                        | MOURE .....   |                                   |
| DONZELOT. .... |                        | QUENU .....   |                                   |
| DUVOIR .....   |                        | SCHWARTZ .... | Clinique obstétricale.            |
| LIAN .....     |                        | VELTER .....  |                                   |
| PASTEUR - VAL- |                        | GUÉNIOT. .... |                                   |
| LERY-RADOT .   |                        | LE LORIER.... |                                   |
| SÉZARY. ....   |                        | LEVY-SOLAL .. |                                   |
| BASSET .....   | Clinique chirurgicale. | METZGER. .... |                                   |

#### V. — CHARGES DE COURS

|                            |                      |
|----------------------------|----------------------|
| CHAILLEY-BERT, agrégé .... | Education physique.  |
| FREY .....                 | Stomatologie.        |
| LEDoux-LEBARD .....        | Radiologie clinique. |
| WEIL-HALLÉ. ....           | Puériculture.        |

---

*Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émis dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.*

A MA MERE ET A MON PERE

*Hommage de gratitude et de filiale  
affection.*

A MES SŒURS

A MES BEAUX-FRÈRES

*Très affectueusement.*

A MADEMOISELLE CARMEN HOUSSELIN

*Bien sincèrement.*



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

A LA COMPAGNIE COLOMBIENNE DE TABAC

*Qu'elle veuille accepter dans ce travail,  
un faible témoignage de ma profonde  
reconnaissance.*

A M. LE DOCTEUR ALEJANDRO LOPEZ, I. C.

*Qui m'a guidé de ses sages conseils et  
de sa vaste expérience.*

*Je me fais grand honneur en lui offrant  
cette thèse.*

A M. LE DOCTEUR JOSE MEDINA

*Témoignage de ma sincère affection.*

*Remerciements et reconnaissance.*

A M. LE DOCTEUR BENJAMIN GOMEZ PELAEZ

ET A M. RICARDO LOPEZ FERNANDEZ

A MES COUSINS LES DOCTEURS

CARLOS ET JULIO ARBOLEDA DIAZ

*Gage de ma sincère affection.*

A M. LE DOCTEUR R. DEMANCHE  
Directeur des Services Sérologiques de la Ligue  
Nationale Française contre le péril vénérien  
Chef du Laboratoire Central de Sérologie  
à l'Hôpital Cochin

*Qu'il ne cherche dans ce modeste travail que le témoignage de l'admiration que je lui professe.  
Remerciements et sentiments reconnaissants.*

A MON PRESIDENT DE THESE  
MONSIEUR LE PROFESSEUR TANON  
Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Paris  
Professeur de Médecine Coloniale  
Conseiller technique du Ministre de la Santé Publique  
Inspecteur général des Services techniques d'Hygiène  
à la Préfecture de Police  
Officier de la Légion d'Honneur

*En témoignage de ma profonde reconnaissance pour le très grand honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence de cette thèse.*

A MES MAITRES DE LA FACULTE  
DE MEDECINE DE PARIS

en particulier à

MONSIEUR LE PROFESSEUR BRUMPT

*Qui a toujours montré une généreuse  
déférence vis-à-vis des étudiants de  
l'Amérique latine.*

*Respectueux hommage de reconnais-  
sance.*

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE  
DE MONTPELLIER

A MES MAITRES DE L'INSTITUT DE MEDECINE  
TROPICALE

A MES MAITRES DE L'ECOLE DE SEROLOGIE  
de la Faculté de Médecine de Paris

MEIS ET AMICIS

## INTRODUCTION

Avant de présenter la modification apportée par M. Demanche à la méthode de Bordet-Wassermann, nous croyons utile d'exposer les raisons qui nous ont décidé à choisir cette variante comme sujet de thèse de doctorat universitaire, alors que l'on connaît déjà de nombreuses techniques de fixation du complément appliquées au sérodiagnostic de la syphilis.

En théorie, la spécificité de la réaction de Bordet-Wassermann n'est pas encore établie; si elle caractérise l'infection syphilitique, ses résultats n'ont rien d'absolu et ne doivent être considérés que comme des symptômes précieux dont le praticien doit connaître et juger la valeur et tirer adroitement des conclusions thérapeutiques.

D'une part, parce que la discussion reste ouverte sur la nature intime de l'épreuve; l'explication de son mécanisme, basée d'abord sur le phénomène de Bordet-Gengou dont la réaction tirait ses origines, rentra un peu plus tard, avec l'emploi de suspensions de lipoïdes comme antigènes, dans le domaine des lois physico-chimiques, et tend à revenir tout dernièrement à l'ancienne conception antigénique qui l'assimilait au phénomène de Bordet-Gengou, avec les notions nouvelles apportées par Landesteiner, Sachs, Klopstock, Cesari et Demanche sur la fonction antigénique complète des lipoïdes et leur rôle dans les réactions sérologiques de la syphilis.

D'autre part, parce que l'étude critique de la méthode de Bordet-Wassermann et les nombreuses tentatives de perfectionnement dont elle a été l'objet depuis 1906, ont fait ressortir dans cette réaction la possibilité de nombreuses causes d'erreur dont la nature est assez variée.

En pratique, cependant, les opinions sont moins catégoriques; et si pour quelques cliniciens la valeur du Bordet-Wassermann n'est que relative, pour la plus grande partie d'entre eux, en dehors de certaines pseudo-réactions semblant dues à la labilité des protéines sériques, un résultat positif obtenu dans des conditions d'expérience précises et contrôlables, indique toujours une syphilis en évolution.

La responsabilité qui pèse sur un diagnostic de laboratoire se trouve donc considérablement augmentée en sérologie syphilitique, de par la nature complexe des épreuves et de par l'avenir médical du malade; le sérologiste devient ici le juge qui décide en lisant à travers ses tubes à essai, de l'imposition au patient d'un traitement toujours prolongé et souvent pénible et de la réussite possible du médecin praticien.

Or, bien que les réactions de floculation directe aient contribué fort heureusement à remédier aux imperfections des méthodes d'hémolyse, surtout pour le contrôle des nombreux résultats douteux que l'on obtient dans la pratique journalière, il ne reste pas moins certain que la réaction de Bordet-Wassermann continue à être pratiquée couramment dans tous les laboratoires, soit suivant la technique classique, soit suivant une des nombreuses modifications auxquelles son étude critique a donné naissance.

Mais quelques améliorations que ces dernières apportent au Bordet-Wassermann classique, il faut remarquer qu'elles n'offrent pas toutes les mêmes

garanties et que le sérologiste doit savoir choisir entre elles. Non seulement leur étude critique montre que chacune présente des causes d'erreur qui lui sont particulières, mais encore les Conférences Internationales de Sérologie ont fait ressortir entre les plus connues des écarts de sensibilité qui ne sont point méprisables.

En face de ces considérations, il semble logique de se demander si la standardisation du Bordet-Wassermann, dont il a été quelquefois question, ne marquerait pas un grand progrès en sérologie. Des raisons de caractère individuel montrent qu'il serait malaisé de vouloir imposer aux sérologistes une technique déterminée de fixation du complément. Car, comme le fait remarquer M. Demanche, les avantages et les inconvénients d'une méthode particulière varient avec certaines conditions d'ordre pratique et économique, telles que l'installation plus ou moins complète du laboratoire et le nombre des sérums à examiner par séance, les ressources économiques du sérologiste, etc., considérations dont il est justifié à celui-ci de tenir compte d'autant plus que si les réactions de flocculation, outre le Kahn standard qui « dans l'état actuel de la sérologie doit être considéré comme la réaction étalon » sont sujettes à des règles très strictes quant à la préparation des réactifs et à la conduite des épreuves, les méthodes d'hémolyse sont beaucoup plus malléables, leurs éléments permettant des combinaisons plus adaptables aux conditions d'expérimentation d'un laboratoire central ou particulier.

Toutefois, il est incontestable que le sérodiagnostic de la syphilis par les méthodes de fixation du complément ne peut être garanti sans l'observation doctrinaire, pour ainsi dire, de certains principes fondamentaux sur lesquels doivent être guidées ces réactions, principes qui dérivent non seulement de ce

qu'on est arrivé à éclaircir jusqu'à présent de leur mécanisme intime, mais encore de la connaissance des réactifs que l'on emploie, de la façon dont chacun d'eux agit par rapport aux autres et des causes d'erreur qu'ils peuvent introduire dans le processus expérimental.

Car, la délicatesse extrême de ces réactions, fonction des influences réciproques qu'une variété d'éléments d'architecture complexe et de provenance hétérogène exercent les uns sur les autres, exige et la perfection la plus possible de ces derniers et leur réglage précis quoique empirique, de telle façon que le résultat de leur combinaison, tout en caractérisant l'infection syphilitique, laisse une marge de sécurité et de garantie contre les réactions non spécifiques à qui peuvent donner lieu les techniques d'hémolyse.

C'est justement parce que nous avons trouvé que la méthode de M. Demanche se basait sur ces considérations, que nous avons jugé de la présenter dans cette thèse. Nous croyons que les directives scientifiques sur lesquelles elle est fondée, ainsi que les nombreux avantages d'exécution qui la caractérisent et les résultats fort appréciables qu'elle a donnés à son auteur pendant quatre ans de pratique journalière au laboratoire central de l'hôpital Cochin, résultats en tous points comparables à ceux de la réaction standard de Kahn, apporteront à nos jeunes collègues d'Amérique latine, auxquels nous consacrons spécialement ce travail, en même temps qu'une méthode d'hémolyse toute pleine de garanties et d'avantages, un gage précieux de la science que nous admirons chez les Maîtres des facultés françaises.

## LES DERNIERS PROGRES DES REACTIONS D'HEMOLYSE

LA TECHNIQUE DE M. DEMANCHE

Lorsqu'on jette un regard sur les rapports généraux des Conférences Internationales provoquées par les nombreuses réactions qui ont été proposées au sérodiagnostic de la syphilis, on constate que bien que les méthodes de floculation directe gardent la première place dans la pratique des séro-analyses, celles de fixation du complément ont réalisé des progrès considérables au cours de ces dernières années.

On voit en effet que la II<sup>e</sup> Conférence de Sérologie de Copenhague, après une étude approfondie des diverses méthodes qui lui furent présentées, déclara, en 1928, les techniques standard de Kahn et de congglomération de Müller, comme les plus spécifiques et les plus régulières, accordant ainsi aux réactions de floculation, la primauté sur celles d'hémolyse. La technique de Kahn, selon le rapport de la Conférence, montra à la fois un maximum de spécificité et une sensibilité supérieure de plus de 15 % sur les meilleures méthodes de fixation du complément soumises à cet arbitrage.

Mais, quand on passe aux conclusions de la Conférence de Laboratoire qui eut lieu à Montevideo, en septembre 1930, on est forcé de remarquer que les réactions d'hémolyse ont été l'objet, depuis 1928, d'heureuses tentatives de perfectionnement. A côté des techniques de Kahn, de Müller et de Meinicke, viennent se placer avec une égale spécificité les

méthodes au sérum chauffé de Sordelli Miravent et de Harisson-Wyler, la première ne montrant avec le Kahn standard, qu'un écart de sensibilité de 8 %, la deuxième ayant réduit cet écart de 19,3 en 1928, à 9,5 % seulement.

La valeur de ces dernières réactions se voit d'ailleurs confirmée par le Comité d'Hygiène de la Société des Nations, qui les conseille d'une façon particulière aux sérologistes au cours de sa XIX<sup>e</sup> session, au mois d'octobre 1932.

Notons, cependant, que ces progrès ont été enregistrés seulement sur les méthodes au sérum chauffé. On sait, en effet, que les réactions au sérum frais type Hecht, malgré l'avantage de sensibilité qui semblent posséder dans certains cas, ont été déclarées les moins spécifiques par la II<sup>e</sup> Conférence de Sérologie de Copenhague. Depuis cette époque, leur emploi est devenu de plus en plus rare dans les laboratoires, car on s'est en outre aperçu qu'elles peuvent conduire à des résultats faux et irréguliers, non seulement à cause des quantités variables que chaque sérum y apporte de complément et d'hémolysine naturelle anti-mouton, mais occasionnés encore par la nature labile des sérums frais.

La faveur dont jadis ces méthodes bénéficièrent provenait surtout de ce qu'on pensait que le chauffage à 56° altérerait l'équilibre spécial des sérums syphilitiques, affaiblissant ainsi la sensibilité des réactions. Mais il est démontré aujourd'hui que ce n'est pas au chauffage des sérums, mais plutôt aux imperfections des techniques, qu'était due la moindre valeur du Bordet-Wassermann vis-à-vis des méthodes du type Hecht.

Les efforts de perfectionnement des réactions d'hémolyse ne se sont pas arrêtés à la Conférence de Laboratoire de Montevideo; ils ont été poursuivis, non seulement à l'étranger, mais aussi en France. On a cherché à donner encore à ces méthodes, plus de spécificité, plus de sensibilité, plus de précision.

En France, M. Demanche a étudié et contrôlé pendant longtemps la technique qui nous occupe. Ses principes directeurs ont été relevés de l'étude des causes d'erreur des réactions de fixation du complément; ses conditions de pratique d'une expérience journalière de près de 20 ans, au Laboratoire Central de l'Hôpital Cochin de Paris; son contrôle a été, enfin, rigoureusement suivi sur la haute spécificité de la réaction de Kahn.

Il ne faudrait pas cependant chercher dans la méthode de M. Demanche, non plus que dans les autres techniques de fixation du complément, que tant de progrès ont fait réaliser au sérodiagnostic de la syphilis, des réactions différentes de celles de Bordet-Wassermann. Elles ne représentent, en réalité, que des améliorations de cette dernière, améliorations qui se sont portées d'une façon générale sur les conditions d'expérience, mais surtout sur le réglage de la proportion suivant laquelle les divers réactifs doivent être employés pour assurer le bon mécanisme et la sensibilité de la réaction.

La précision de ce réglage conditionne d'ailleurs toute la spécificité de l'épreuve de Bordet-Wassermann. Les méthodes de fixation du complément, tout comme les autres réactions sérologiques appliquées à la syphilis n'ont rien d'absolu, la constitution complexe et l'activité variable de leurs éléments les exposant à des erreurs nombreuses; et à cela s'ajoute encore le fait que le système hémolytique qui sert

ici de réactif indicateur si, certes, traduit par le mécanisme de l'hémolyse la formation ou l'absence d'un complexe réagine syphilitique-antigène, camoufle aussi sous ce même mécanisme les actions réciproques et quelquefois exagérées que les éléments exercent entre eux, et participe également de ces influences dans les phénomènes expérimentaux de la réaction.

La proportion suivant laquelle les réactifs prennent part au Bordet-Wassermann doit donc tendre non seulement à saisir les plus faibles traces de réagine syphilitique, mais encore à éliminer autant que possible, les causes capables de troubler le système indicateur; elle doit faire entrer ces éléments dans la réaction à une dose optima, les uns par rapport aux autres, afin d'établir entre tous un équilibre d'activités de la délicatesse duquel dépend la valeur des résultats.

C'est la perfection avec laquelle cet équilibre peut être réalisé dans la méthode de M. Demanche, qui donne à cette technique une grande spécificité; deux règles fondamentales y guident son établissement : une juste proportionnalité entre le sérum suspect et les globules rouges de mouton, qui écarte de la réaction de Bordet-Wassermann de nombreuses causes d'erreur et assure au complexe hémolytique un maximum de régularité; un juste rapport entre ce même sérum et l'antigène, qui permet à la méthode de déceler avec une grande sensibilité la présence de la réagine syphilitique.

A ces particularités la technique de M. Demanche, joint encore des avantages d'exécution considérables que, bien que constituant des qualités secondaires, contribuent tout de même à la simplicité de la réaction et à la précision des résultats.

La proportionnalité spéciale entre la dose de sérum à expertiser et la quantité de globules rouges de mouton à mettre en œuvre, permet d'éviter pratiquement dans la réaction de Bordet-Wassermann, le rôle nuisible de l'hémolysine naturelle anti-mouton du sérum humain sur ces globules rouges.

On sait en effet dès la naissance des méthodes de fixation du complément, que le sérum humain possède en proportions abondantes et, d'ailleurs, très variables, une hémolysine anti-mouton assez active pour que 0 c.c. 1 de sérum frais soit capable de dissoudre, en présence de son complément naturel, jusqu'à 0 c.c. 8 d'une émulsion à 5 % de globules rouges de mouton, dans l'intervalle de trente minutes.

Le pouvoir de cette hémolysine, d'emploi connu dans la réaction de Hecht, a été mesuré par Ronchèse en présence d'un complément titré. D'après cet auteur, il peut varier de 1 à 300 unités suivant les sérums.

Or, si le chauffage des sérums à 56° inactive le complément il ne détruit pas ce pouvoir. La quantité de 0 c.c. 2 de sérum suspect que l'on utilise généralement dans la méthode classique de Bordet-Wassermann, peut donc introduire dans la réaction un grand supplément d'unités hémolytiques susceptibles d'altérer d'une façon variable, comme le fait remarquer M. Demanche, l'équilibre délicat réalisé par les titrages, et auxquels ce sérum ne participe pas.

Le plus souvent, cet excès d'hémolysine vient renforcer le complexe hémolytique montrant par la suite en présence d'une réaction faible, un résultat négatif.

Ou bien, il exerce sur la sensibilisatrice artificielle anti-mouton une action inhibitrice, qui fait apparaître les sérums comme anticomplémentaires.

Dans des cas plus rares, enfin, c'est une action agglutinante que cette hémolysine exerce sur les globules rouges, action qui s'accompagne aussi d'une gêne de l'hémolyse.

Weinberg et Lévy, Rossi, Neguchi et à sa suite Ronchèse, ont proposé, en effet, diverses méthodes pour remédier à ces influences fâcheuses du sérum humain dans la réaction de Bordet-Wassermann. Mais ces procédés ne sont qu'exceptionnellement pratiqués dans les laboratoires, car n'étant pas si simples qu'ils le semblent, ils occasionnent une surcharge de travail qui devient considérable lorsqu'il s'agit de pratiquer plusieurs séro-analyses.

Aussi, M. Demanche s'est efforcé de savoir si l'emploi de très petites quantités de sérum suspect, déjà préconisé par quelques auteurs, ne nuirait vraiment pas à la sensibilité des réactions. En réduisant la dose de ce sérum par rapport aux globules rouges (ou en augmentant les globules par rapport au sérum) on pouvait, en effet, non seulement éviter le plus possible que son activité hémolytique s'exerce sur ces globules, mais encore annuler sensiblement cette activité en face de celle de l'hémolysine artificielle évidemment beaucoup plus considérable.

Par une série d'expériences que nous ne croyons pas utile de détailler dans ce travail, cet auteur constata qu'il n'existe pas de proportionnalité entre l'intensité de la réaction et la dose de sérum suspect mise en œuvre; que lorsqu'on élève cette dose dans un système réactionnel donné, plutôt qu'augmenter sa sensibilité on peut quelquefois aboutir, quand le sérum est très hémolytique, soit à un résultat faussement négatif, soit à un effet anticomplémentaire; et inversement, qu'il est possible de diminuer d'une façon appréciable la quantité de sérum suspect sans

modifier les résultats, pourvu que le rapport entre tous les éléments reste constant.

Le maintien d'une proportion y est, en effet, indispensable. Il faut tenir présent à l'esprit que quand on diminue la dose de sérum on augmente par rapport à elle la quantité de complément introduit dans la réaction. Or, déjà Ronchèse avait soutenu que l'emploi de quantités de plus en plus petites de sérum positif à partir de la dose pour laquelle une réaction a été réglée, aboutit plus ou moins vite à l'affaiblissement et à la négativation des résultats, mais que ceci ne provient pas de la quantité de sérum, mais d'une action neutralisante des albumines banales du sérum du cobaye qui fournit le complément sur l'état spécial d'équilibre albumines-globulines du sérum syphilitique.

Ces différentes constatations expérimentales guidèrent M. Demanche dans le réglage de sa méthode, suivant certains principes qu'il y releva et qui peuvent être ainsi résumés: si, en effet, il est convenable qu'il existe une proportion juste entre la dose de sérum suspect et la quantité de globules rouges, il est en même temps nécessaire qu'il y ait un certain rapport entre la dose de ce sérum et la quantité de complément; et il est même avantageux pour la bonne marche des réactions, d'abaisser le plus possible ce rapport par la suppléance de l'hémolysine. Mais comme la quantité de complément dépend de la quantité de globules rouges, il suffit, en définitive, de l'employer suivant une proportion fixe avec celle-ci, et de rapporter le sérum suspect à la quantité de ces globules.

\*\*

Le deuxième principe de la méthode de M. Demanche commande comme nous l'avons dit, un juste rap-

port entre le sérum suspect et l'antigène, rapport qui donne à la réaction de Bordet-Wassermann, un haut degré de sensibilité.

Rappelons avant tout qu'un des points les plus faibles du séro-diagnostic de la syphilis en général, se trouve justement dans la nature de ses antigènes. En effet, les suspensions de lipoïdes qu'on emploie comme tels ne possèdent pas, d'après Sachs et son école, une spécificité nettement orientée; elles sont constituées par une réunion d'antigènes partiels, en concurrence d'activité réactionnelle, dont l'affinité totale pour la réagine syphilitique n'est due, en réalité, qu'à leur teneur globale en lipoïdes et à un état spécial de dispersion de ces derniers dans l'eau physiologique qui sert à les diluer. Mais ces antigènes restent, cependant, secondairement des réactifs généraux des protéines et peuvent former des complexes non spécifiques, non seulement avec les albumines banales des sérums, mais encore suivant l'instabilité des protéines humaines (états cachectiques, tuberculose, paludisme, caratès, etc....).

Il est tout de même possible au sérologiste de régler ses antigènes pour qu'ils reflètent avec une très grande spécificité l'altération syphilitique du sérum en expertise.

Cependant, si spécifique que puisse être un antigène, il ne doit pas être employé au hasard; il faut que la dose qu'on fait entrer dans la réaction soit proportionnée à la richesse des sérums en réagine syphilitique, et à la quantité de ces sérums.

Il ne faut pas croire que l'emploi de l'antigène à doses élevées donne toujours plus de sensibilité aux réactions. On voit, en effet, utiliser dans le Bordet-Wassermann classique des quantités croissantes d'un antigène très concentré, au 1/20° et même au

1/10<sup>e</sup>, comme si en augmentant les doses on avait plus de chance de saisir les plus faibles traces de réagine. Or, il résulte des expériences de M. Demanche que les quantités fortes d'antigène, loin d'augmenter la sensibilité des réactions, inhibent le pouvoir fixateur des sérums à potentiel syphilitique faible qui justement sont ceux qu'il est plus difficile à déceler par les séro-analyses.

Cet auteur a constaté, en effet, que bien que les méthodes d'hémolyse permettent plus facilement que celles de floculation les écarts des doses d'antigène, car elles sont moins sujettes que ces dernières au phénomènes de zone, il est cependant nécessaire que ces doses soient en rapport avec le pouvoir fixateur spécifique des sérums, et que quand ce pouvoir diminue il faut diminuer et non pas augmenter comme on est tenté de le faire, les quantités d'antigène. Mais qu'il est toutefois possible de trouver une dose convenant à tous les sérums, dose qu'il faut chercher par un titrage rigoureux, du côté des dilutions étendues et non pas du côté des concentrations fortes d'antigène.

Naturellement cette dose varie avec la qualité et avec le mode de préparation de chaque antigène, et ne peut être fixée, en conséquence, qu'en essayant, lorsque la proportion des autres éléments de la réaction a été judicieusement établie, l'action de dilutions progressivement croissantes d'antigène, sur des dilutions progressivement décroissantes de sérums fortement positifs.

Conformément à ses expériences, M. Demanche emploie dans sa technique une seule dilution, au 1/20<sup>e</sup>, d'un antigène myocardique additionné de 0,3 % de cholestérine, qu'il introduit dans la réaction à la quantité de 0 c.c. 3 pour chaque tube.

Quand cet auteur a fait connaître sa méthode il a conseillé de diluer au 1/50<sup>e</sup> l'antigène; mais ses travaux ultérieurs, contrôlés par six mois d'expérience journalière portant au total sur plus de 10.000 sérums, le menèrent à la modifier au 1/200<sup>e</sup>.

Nous présentons à la fin de ce travail une étude comparative sur ces deux dilutions; elle permet de voir que la sensibilité des réactions augmente d'une façon générale, mais surtout, et considérablement, dans les syphilis latentes et dans les parasyphilis, quand on passe de la dilution au 1/50<sup>e</sup> de l'antigène à celle au 1/200<sup>e</sup>.

Nous devons remarquer que si bien la méthode de M. Demanche emploie simultanément deux tubes d'antigène, un cholestériné, un simple, le dernier de ceux-ci n'y intervient qu'à titre accessoire; étant beaucoup moins sensible que le premier, il encadre la réaction et permet en quelque sorte d'explorer le potentiel syphilitique des sérums. Ainsi, tandis que l'antigène cholestériné montre des résultats tout à fait comparables à ceux de la réaction standard de Kahn, il nous a semblé lorsque nous préparions ce travail, que l'antigène simple rapproche les siens de ceux fournis par la méthode photométrique de Vernes.

\*  
\*\*

Outre la précision que ces principes donnent à la méthode de M. Demanche, leur observation apporte encore des avantages considérables. En effet, la réduction de la dose de sérum suspect permet d'en faire une économie précieuse, qui peut être utilisée dans la pratique d'autres réactions; le besoin d'ajuster le complément à la quantité de globules rouges, évite le titrage journalier de celui-ci, et le remplace par la

préparation du système hémolytique au moyen de la sensibilisatrice, préparation qui apparaît d'une simplicité inattendue une fois qu'elle a été tentée; l'emploi de l'antigène, enfin, à une dilution étendue, donne à ces suspensions une limpidité parfaite qui facilite grandement la lecture des réactions.

En plus, la technique de M. Demanche contribue encore à la netteté du Bordet-Wassermann en contrôlant le complexe hémolytique par deux témoins sérums; dans ces témoins, les hématies de mouton différemment sensibilisées permettent d'équilibrer l'action nuisible que le sérum suspect puisse exercer sur les globules rouges.

L'emploi d'un même volume pour l'antigène et pour le complément, facilitant d'une part le calcul rapide des quantités et d'autre leur distribution presque automatique par le rhéomètre de Vernes, leur fixation à la température du laboratoire pour éviter l'altération du complément, constituent enfin, dans la méthode de M. Demanche, des détails d'exécution qui le font fort appréciable.

## DESCRIPTION DE LA METHODE DE M. DEMANCHE

### LES RÉACTIFS

*Antigène.* — M. Demanche emploie pour la préparation de son antigène la poudre myocardique des laboratoires Choay, avec laquelle il fait un extrait alcoolique au 1/10<sup>e</sup> après l'avoir épuisée par l'éther anhydre suivant la technique de Kahn. Cet extrait est utilisé dans la réaction, nous l'avons vu, à l'état simple ainsi qu'additionné de 0,3 % de cholestérine.

Leur dilution se fait au 1/200<sup>e</sup> avec de l'eau physiologique à 0,9 % et en deux temps. On introduit d'abord la quantité nécessaire d'antigène dans une éprouvette graduée de 60 cmc. propre et sèche, puis on laisse tomber goutte à goutte, à la vitesse de 50 gouttes à la minute et d'une hauteur de 20 cm, une quantité double d'eau physiologique. On agite et on laisse mûrir pendant dix minutes ; puis, d'un coup, on ajoute le reste d'eau physiologique. On obtient ainsi une suspension opalescente, claire, transparente, qui donne au photomètre de Vernes une densité optique de 25 à 30 pour l'extrait cholestériné, de 12 à 18 pour l'extrait simple.

On peut se servir soit de l'antigène standard de Kahn, soit de celui de M. Debains pour remplacer l'extrait cholestériné ; mais le premier de ceux-ci sera préalablement dédoublé par l'alcool à 95°, car il contient 0,6 % de cholestérine ; sa première dilution doit être faite d'un coup et non goutte à goutte. Quant à

celui de M. Debains, il sera dilué au 1/60<sup>e</sup> et en un seul temps.

L'antigène intervient dans la réaction à la dose de 0 cmc. 3; mais il est mélangé avec le complément avant d'être distribué.

*Complément.* — M. Demanche insiste sur l'avantage qu'il y a à employer un complément provenant du mélange des sangs de plusieurs cobayes, cinq au moins qu'on sacrifie tous ensemble; le sérum ainsi obtenu a un pouvoir aléxique très uniforme, et peut être employé, comme nous le verrons, à une quantité fixe. Les cobayes doivent être mâles à cause du risque de gestation des femelles; une fois sacrifiés, on laisse le caillot se rétracter à la température du laboratoire, on centrifuge le sérum et on le conserve en solution salée hypertonique, en lui ajoutant une fois et demie son volume de la solution conservatrice de Ronchès.

Eau distillée : 1.000 cmc.;

Chlorure de Na. : 54 grammes;

Sunoxol : 0 gr. 25.

Par ce procédé, et grâce au mélange des sangs, on obtient un complément de titre constant, et on évite tout gaspillage, ne prélevant pour chaque série de réactions que la quantité de sérum strictement nécessaire. Ce complément ainsi dilué se conserve, en effet, avec toute son activité pendant quinze jours à trois semaines, à condition qu'il soit gardé à la glacière à + 4°.

Au moment de l'employer on lui ajoute trois fois son volume d'eau distillée; on obtient ainsi un complément isotonique au 1/10<sup>e</sup> qui doit être utilisé immédiatement.

En principe, M. Demanche se sert d'une dilution fixe de ce complément, dilution qui est généralement

celle au 1/20<sup>e</sup>, le mélange de plusieurs sérums de cobaye lui assurant une grande régularité; il équilibre le complexe hémolytique au moyen de l'activité compensatrice de l'hémolysine. (Loide Rodet et Fabre.)

Cependant, quand on entame une nouvelle proportion de complément, il est convenable d'explorer son activité par un titrage qui peut se faire comme nous le verrons, avec trois dilutions différentes (au 1/10<sup>e</sup>, au 1/15<sup>e</sup> et au 1/20<sup>e</sup>).

Le complément est employé à la dose de 0 cmc. 3; mais avant de le distribuer on le mélange avec un volume égale de la dilution d'antigène pour les tubes de réaction et avec un volume égal d'eau physiologique pour les tubes témoins. On appelle ces mélanges : antigène activé et eau physiologique activée.

*Ambocepteur hémolytique.* — On utilise le sérum de lapin anti-mouton; il est employé au 1/10<sup>e</sup> et non pas au 1/100<sup>e</sup>, afin de ne pas modifier par l'addition d'un trop grand volume de liquide la concentration de l'émulsion globulaire.

Le sérum hémolytique doit contenir au moins 100 unités de la réaction de Bordet-Wassermann classique. Pour cela, il faut que 0 cmc. 1 de sa dilution au 1/100<sup>e</sup> puisse dissoudre, en présence de 0 cmc. 1 de complément à 40 %, 1 cmc. d'hématies de mouton à 5 %.

Le titrage du système hémolytique permettra de fixer le taux de sensibilisation des globules. Cette sensibilisation se fait d'avance, avant de distribuer ces derniers. Le sérum hémolytique peut se conserver, comme le complément, dans la solution de Ronchèse que nous avons indiquée ci-dessus. Une fois que le sérum de lapin a été inactivé, on le mélange avec cette solution dans les mêmes conditions que pour le

complément. On empêche ainsi sa putréfaction et on a à la fois la facilité de préparer, en partant de ce sérum hypertonique, une solution isotonique au 1/10<sup>e</sup>, qui est celle qu'on emploie dans la réaction.

*Globules rouges.* — On se sert de ceux du mouton; lavés d'abord à l'eau physiologique et rétablis à son volume primitif de sang, ils seront dilués au 1/20<sup>e</sup> dans l'eau physiologique. Cette émulsion globulaire doit être contrôlée avant de l'employer; sa teneur en globules doit être telle que, diluée elle-même au 1/100<sup>e</sup> (0 cmc. 1 d'émulsion pour 10 cmc. d'eau physiologique), elle donne au photomètre de Vernes une densité optique de 60 à 65.

On peut aussi se servir de l'hémoglobininètre de Gowers pour faire ce contrôle. On introduit dans un tube gradué de l'appareil, 0 cmc. 6 de suspension globulaire au 1/20<sup>e</sup>, et on ajoute de l'eau distillée jusqu'à égalisation des teintes avec le tube étalon. Cette égalisation doit être obtenue par addition de 1 cmc. d'eau distillée, ce qui correspond au degré 80 de l'hémoglobininètre.

L'hémoglobininètre d'Hallion et Borrien peut rendre le même service; on y emploie les mêmes quantités de suspension globulaire et d'eau distillée que dans le Gowers; le teint obtenu doit correspondre au degré 80 ou 85 de l'hémoglobine.

Les globules rouges seront sensibilisés avant de les distribuer à la dose de 0 cmc. 6 par tube.

*Le sérum suspect.* — Après centrifugation et inactivation au bain-marie à 56° pendant une demi-heure, le sérum à examiner sera distribué à la dose de 0 cmc. 05. Pour le liquide céphalo-rachidien il est nécessaire et sans inconvénient d'utiliser des doses plus élevées. On peut employer 0 cmc. 5.

## LA RÉACTION

Le dispositif de cette technique est des plus simples; chaque réaction se compose de quatre tubes; ceux du centre (II et III) sont les tubes de réaction et contiennent chacun un antigène différent (tube II, antigène simple; tube III, antigène cholestériné, voir page 38); ceux des extrémités (tubes I et IV) sont les témoins sérum. A la fin de toute la série on ajoutera deux tubes témoins pour les antigènes.

Les tubes I et IV ne contiennent pas d'antigène; ils ne diffèrent entre eux que par le degré de sensibilisation des globules rouges; dans le IV<sup>e</sup>, ces globules sont sensibilisés avec une dose d'ambocepteur hémolytique minima, mais suffisante pour assurer l'hémolyse complète; dans le I<sup>e</sup>, ils le sont avec la plus grande dose qu'on y peut introduire sans déterminer l'hémolyse. Ainsi, à la lecture d'une réaction, le IV<sup>e</sup> tube doit être hémolysé au complet, tandis que le premier ne doit présenter au plus qu'un léger degré d'hémolyse. « Ces deux tubes ainsi préparés, encadrent la réaction entre deux degrés d'activité hémolytique, le premier à la limite supérieure de l'insuffisance, le second nettement suffisant; ils jalonnent ainsi les limites entre lesquelles elle se poursuit, quelles que soient les variations individuelles introduites par le sérum humain dans le système hémolytique; l'écart qui les sépare absorbe tout au moins cette cause d'erreur et mesure le degré de précision de la réaction. Il faut donc tendre à réduire le plus possible cet écart; il sera d'autant plus faible que la quantité de complément mise en jeu sera plus exactement ajustée, une très faible différence de sensibilisation des globules pouvant alors, en vertu de la loi de suppléance, faire virer le système vers l'hémolyse ou la non hémolyse ». (Demanche.)

Il s'agit donc de chercher la dose juste de complément et, en même temps, les quantités d'hémolyse nécessaires pour sensibiliser convenablement les globules rouges; ceci constitue le titrage du système hémolytique.

*Titration du système hémolytique.* — Il faut le faire toujours en présence d'un des antigènes, le cholestérine de préférence.

On commence par sensibiliser différemment les globules rouges, en faisant varier les doses d'antigène hémolytique. On dépose dans une série de six petits vases à précipiter, du sérum hémolytique au 1/10<sup>e</sup> et aux doses successives de 1, 2, 4, 6, 8 et 10 divisions de la pipette N° 3 de Kahn dont chaque division mesure 0 cmc. 0125, et on ajoute dans chacun 7 cmc. 5 de globules rouges de mouton au 1/20<sup>e</sup>. Ces doses de sérum hémolytique, rapportées à 0 cmc 6 de globules rouges qu'on emploie dans la réaction, correspondent respectivement à 0 cmc. 001, 0 cmc. 002, 0 cmc. 004, 0 cmc. 008 et 0 cmc. 01 de sérum hémolytique au 1/10<sup>e</sup>.

Si le sérum hémolytique employé était plus ou moins actif, il faudrait modifier le taux de sa dilution pour comprendre le début et la fin de l'hémolyse dans les doses indiquées.

Le titrage proprement dit se fait comme suit : on dispose trois séries de six tubes à essai, dans lesquels on introduit avec le rhéomètre de Vernes :

Dans tous les tubes, 0 cmc. 3 d'antigène au 1/200<sup>e</sup>;

Dans les tubes de la série I, 0 cmc. 3 de complément au 1/10<sup>e</sup>;

Dans ceux de la série II, 0 cmc. 3 de complément au 1/15<sup>e</sup>;

Dans ceux de la série III, 0 cmc. 3 de complément au 1/20°;

Dans chacun des tubes des trois séries respectivement 0 cmc. 6 de chacune des six émulsions de globules rouges à sensibilisation croissante.

On porte ensuite les tubes au bain-marie à + 37° ; au bout de 20 minutes on les retire et on cherche dans chaque série, en allant de gauche à droite, le dernier tube qui ne présente pas une hémolyse appréciable et le premier qui soit franchement hémolysé. Ils représentent les deux limites, inférieure et supérieure, de l'activité hémolytique. Noter, d'autre part, quelle est celle des trois séries dans laquelle l'écart de sensibilisation entre ces deux tubes est le plus petit et la différenciation la plus nette; cet écart est normalement de 1 à 4.

Ce titrage n'est cependant pas nécessaire tous les jours; il sert surtout à connaître l'activité, ainsi que la dilution qu'on peut adopter d'un nouveau complément. Mais lorsqu'on pratique journellement des réactions avec un complément provenant d'un mélange des sangs de plusieurs cobayes et conservé dans la solution de Ronchèse, il suffit de vérifier, pendant le premier temps de la réaction, le taux de sensibilisation des globules au moyen des six émulsions et en présence de l'antigène activé qu'on aura préparé pour les réactions du jour.

*Pratique de la réaction.* — En dehors du sérum suspect il n'y a que deux distributions à faire : celle de l'antigène activé ou de l'eau physiologique activée pour le premier temps de la réaction; celle des globules rouges sensibilisés pour le deuxième temps. Ces distributions se font avec le rhéomètre de Vernes et à une dose uniforme de 0 cmc. 6. Cette simplification fait gagner à l'opérateur un temps considé-

nable et le garantit à la fois contre les erreurs ou les oublis de distribution.

On prépare d'abord les quantités nécessaires des deux antigènes et du complément, en tenant compte du nombre des réactions à effectuer, des deux témoins antigènes, et des tubes pour le titrage du système hémolytique. Chacun de ces réactifs intervient dans la réaction, nous l'avon vu, à la dose de 0 cmc. 3. Puis, on mélange à parties égales antigène et complément, et on étend le reste du complément avec son volume d'eau physiologique pour les tubes des extrémités de chaque réaction (I et IV).

On distribue après dans chacun des tubes, 0 cmc 05 de sérum suspect, ou 0 cmc 5 de liquide céphalo-rachidien; et avec un rhéomètre de Vernes 0 cmc. 6 de chacun des antigènes activés dans les tubes II et III, et 0 cmc. 6 d'eau physiologique activée dans les tubes I et IV. (Voir page 38.)

La fixation se fait à la température du laboratoire pendant 45 minutes; on évite ainsi l'altération de l'activité du complément déterminée par la mise à l'étuve à 37°, ou les réactions très intenses et souvent non spécifiques qui s'observent avec l'emploi de basses températures pour faire cette fixation.

Pendant ce temps, on vérifie le titrage du système hémolytique au moyen des six émulsions de globules sensibilisés que nous avons déjà étudiées. Pour cela, on ajoute avec un rhéomètre, 0 cmc. 6 de chacune de ces émulsions à 0 cmc. 6 d'antigène activé et on porte au bain-marie les tubes pendant vingt minutes. Ce titrage donne directement les quantités de sérum hémolytique à employer pour 0 cmc. 6 de globules, par exemple : 0 cmc. 002 pour la sensibilisation faible et 0 cmc. 008 pour la sensibilisation forte.

Il ne reste plus qu'à sensibiliser les globules; on prépare en deux fractions les quantités nécessaires pour la totalité des réactions, à raison de 0 cmc. 6 de suspension globulaire pour le premier témoin et de 0 cmc  $6 \times 3$  pour les deux tubes d'antigène et le second témoin en comptant toujours quelques tubes en plus. La première fraction recevra la sensibilisation faible, la seconde, la sensibilisation forte, car il faut naturellement que l'hémolyse complète puisse se produire aussi bien dans les tubes de réaction que dans les tubes témoins (1).

|                                     | I    | II   | III  | IV   |
|-------------------------------------|------|------|------|------|
| Serum suspect. . . . .              | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Antigènes activés { Simple          |      | 0,6  |      |      |
| { Cholestériné                      |      |      | 0,6  |      |
| Eau physiologique activée. . . .    | 0,6  |      |      | 0,6  |
| 45 min. à la tempér. de laboratoire |      |      |      |      |
| Globules sensibilisées . { Faibles  | 0,6  |      |      |      |
| { Forts                             |      | 0,6  | 0,6  | 0,6  |
| 30 min. au bain-marie à 37°         |      |      |      |      |

(1) Par exemple, pour 50 sérums, calculer comme s'il y en avait 60 :

*Antigène* (de chaque) :  $0,3 \times 60 = 18$  cmc (extrait alcoolique : 0 cmc 36) ;

*Complément* au 1/15 :  $0,3 \times 4 \times 60 = 72$  cmc (eau physiologique 24 cmc + complément au 1/10 : 48 cmc ; (complément hypertonique : 12 cmc + eau distillée : 36 cmc).

*Globules sensibilisées.* — *a*) Sensibilisation faible : sérum hémolytique au 1/10,  $0,002 \times 60 = 0$  cmc 12 ; globules rouges,  $0,6 \times 60 = 36$  cmc ; *b*) Sensibilisation forte : sérum hémolytique au 1/10°,  $0,008 \times 180 = 1$  cmc 44 ; globules rouges,  $0,6 \times 180 = 108$  cmc.

Introduire dans une fiole de Fourneau, d'abord le sérum hémolytique, puis d'un seul coup, les globules et bien agiter.

Puis, avec le rhéomètre, on distribue les globules faiblement sensibilisés à la dose de 0 cmc.6 dans tous les tubes I, et les globules fortement sensibilisés à la dose de 0 cmc. 6 dans tous les tubes II, III et IV et dans les deux témoins antigènes. On place ensuite toutes les réactions pendant trente minutes dans le bain-marie à + 37°.

Quand les tubes antigènes ainsi que le tube IV sont complètement hémolysés, on fait la lecture des résultats. L'intensité des réactions est distinguée en trois degrés +, ++, +++ . Le tube I ne doit présenter au maximum qu'un léger degré d'hémolyse; il garantit la valeur des réactions négatives, celle des positives étant garantie par l'hémolyse complète du tube IV.

## LA VALEUR DE LA METHODE DE M. DEMANCHE

Nous présentons, ici, une étude comparative entre la réaction de Bordet-Wassermann exécutée suivant la méthode de M. Demanche, et la réaction standard de Kahn.

Nous avons pratiqué ces deux réactions avec le sérum de malades appartenant surtout à la Salpêtrière, à l'hôpital La Pitié, ainsi qu'aux dispensaires de syphiligraphie de l'hôpital Cochin, malades dont nous avons pu avoir l'observation clinique et bactériologique complète.

Notre statistique porte, sur 3.338 sérums : 1.527 syphilitiques, 1,611 suspects et 200 provenant de sujets négatifs aux réactions de Hecht, de Calmette-Massol, de Meinicke (Mk2) et de Vernes. Ces derniers sérums ont été examinés à titre de contrôle.

Nous avons employé dans le *Bordet-Wassermann* une dilution au 1/50<sup>e</sup> de l'antigène de M. Demanche pour 1.956 de ces sérums; et une dilution au 1/200<sup>e</sup> pour le reste, soit 1.382. Ainsi, nous étudierons séparément les résultats positifs fournis par chacune de ces deux dilutions, par comparaison avec ceux fournis par la méthode standard de Kahn.

\*  
\*\*

Le tableau ci-contre (N° I) résume les résultats que nous avons obtenus avec les 1.956 sérums examinés simultanément par le Bordet-Wassermann et par le Kahn standard, en employant dans la première de ces réactions une dilution au 1/50<sup>e</sup> de l'antigène. Il y

TABLEAU I

COMPARAISON ENTRE LA RÉACTION DE BORDET-WASSERMANN  
PAR LA MÉTHODE DE M. DEMANCHE ET LA RÉACTION STANDARD DE KAHN

B.-W. = Antigène à 1/50

|                                     | NOMBRE<br>de sérums<br>examinés | RÉSULTATS<br>(+++, ++, +)<br>Kahn | POSITIFS<br>+++, ++<br>B.W. | POURCENTAGE<br>de sensibilité |        |
|-------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------|
|                                     |                                 |                                   |                             | Kahn %                        | B.W. % |
| I. <i>Syphilis certaine</i> :       |                                 |                                   |                             |                               |        |
| S. primaire non traitée .....       | 38                              | 28                                | 21                          | 73,68                         | 55,26  |
| { non traitée .....                 | 27                              | 27                                | 26                          | 100                           | 96,29  |
| S. secondaire .....                 | 535                             | 135                               | 112                         | 25,23                         | 20,93  |
| { en traitement ....                | 32                              | 26                                | 26                          | 81,25                         | 81,25  |
| S. tertiaire .....                  | 93                              | 57                                | 52                          | 61,29                         | 55,91  |
| Parasymphilis .....                 | 187                             | 61                                | 47                          | 32,62                         | 25,13  |
| S. latente .....                    | 49                              | 11                                | 10                          | 22,44                         | 20,40  |
| S. héréditaire .....                | 961                             | 345                               | 294                         | 35,90                         | 30,59  |
| II. <i>Syphilis douteuse</i> :      |                                 |                                   |                             |                               |        |
| Maladies générales diverses .....   | 796                             | 105                               | 69                          | 13,19                         | 8,66   |
| Chancrelles (Ducrey) .....          | 32                              | 1                                 | 0                           | 3,12                          | 0      |
| Dermatoses-Syphilis ? .....         | 67                              | 7                                 | 7                           | 10,44                         | 10,44  |
| III. <i>Sérums de contrôle.....</i> |                                 |                                   |                             |                               |        |
|                                     | 100                             | 0                                 | 0                           | 0                             | 0      |
|                                     | 1956                            | 458                               | 370                         |                               |        |

est rapporté : 1° le nombre de résultats positifs fournis par la réaction standard de Kahn et par celle de Bordet-Wassermann; 2° le pourcentage qui correspond à ces résultats suivant le nombre de sérums examinés.

La première chose qui met en relief ce tableau, c'est la supériorité générale du Kahn standard; elle se maintient, et dans toutes les manifestations de la syphilis, et dans ce que nous avons appelé syphilis douteuse. On est cependant obligé de constater que le Bordet-Wassermann suit de très près la réaction de Kahn; leurs résultats s'égalisent dans la syphilis tertiaire; ils s'égaliseraient aussi, sans doute, dans la syphilis secondaire non traitée, si le Bordet-Wassermann n'avait pas à son désavantage une de ces récidives secondaires sur la sérologie desquelles MM. Hudelo et Rabut ont attiré l'attention. La concordance des résultats se trouve encore dans la ligne qui correspond aux dermatoses; il est bien évident qu'il y est question de réactions positives en rapport avec une atteinte syphilitique de la peau.

Le plus grand écart de sensibilité du Bordet-Wassermann avec le Kahn standard s'observe, sur le tableau que nous examinons, dans la syphilis primaire (18,42 %) ; viennent ensuite dans cette réaction la syphilis latente avec un écart du Kahn de 7,49 %, les parasyphilis avec celui de 5,38, la syphilis en traitement et l'hérédo-syphilis avec un chiffre moindre de 4,35 %, étant pour cette dernière l'écart du Kahn seulement de 2,04 %.

Au total, dans cette première comparaison et avec l'antigène délué au 1/50<sup>e</sup>, la réaction de Bordet-Wassermann nous a donné chez les syphilitiques, un écart moyen de sensibilité de 5,3 % avec le Kahn standard.

Quant à la spécificité de la méthode de M. Deman-

che, elle n'a pas été en défaut ; bien au contraire, nous avons trouvé parmi les 100 sérums qui nous ont servi de contrôle, trois résultats légèrement douteux ( $\pm$ ) avec le Kahn standard, alors que le Bordet-Wassermann était comme les autres réactions complètement négatif.

Signalons, enfin, le petit nombre de résultats douteux que nous a donnés la méthode de M. Demanche; ces résultats « dont la positivité est si faible, qu'on ne sait si on doit l'attribuer aux propriétés fixatrices des sérums ou simplement à des conditions de technique défectueuses », n'ont été que 51, alors que le Kahn nous en a donnés 105; évidemment il y a là une question de sensibilité; mais lorsqu'ils se présentent chez un sujet négatif à trois ou quatre autres réactions et qui n'enregistre aucun antécédent de syphilis, cette question peut être difficile à résoudre.

\*  
\*\*

Si on pousse un peu plus loin l'étude des résultats que nous ont donnés les deux réactions, on constate que leur concordance n'est pas aussi complète qu'elle semblait l'être et qu'en réalité il y intervient des discordances qui se neutralisent (Tableau II).

Dans la syphilis primaire le Bordet-Wassermann a été une fois positif avec le Hecht et le Meinicke, alors que le Kahn était négatif. Signalons aussi quatre cas dans lesquels le Wassermann a été douteux avec un Kahn à une ou deux croix; il s'agissait de chancres très jeunes où la sérologie positive commençait à peine à s'installer.

On trouve dans les chancres un résultat positif en faveur de la réaction de Kahn ; il est dû à un chancre mixte, qui est resté trois mois négatif aux métho-

TABLEAU II

DISCORDANCES ENTRE LA RÉACTION DE BORDET-WASSERMANN  
PAR LA MÉTHODE DE M. DEMANCHE ET LA RÉACTION STANDARD DE KAHN

Antigène à 1/50

|                                   | DISCORDANCES PARTIELLES |          | DISCORDANCES TOTALES |                   | Total |
|-----------------------------------|-------------------------|----------|----------------------|-------------------|-------|
|                                   | K > B.W.                | B.W. > K | Kahn positif seul    | B.W. positif seul |       |
| I. <i>Syphilis certaine</i> :     |                         |          |                      |                   |       |
| S. primaire non traitée .....     | 7                       | 3        | 4                    | 1                 | 5     |
| } non traitée .....               | 3                       | 3        | 0                    | 0                 | 0     |
| S. secondaire en traitement ....  | 29                      | 24       | 21                   | 3                 | 24    |
| S. tertiaire .....                | 0                       | 3        | 0                    | 0                 | 0     |
| Parasyphilis .....                | 4                       | 19       | 7                    | 1                 | 8     |
| S. latente .....                  | 16                      | 5        | 12                   | 1                 | 13    |
| S. héréditaire .....              | 2                       | 3        | 1                    | 0                 | 1     |
| II. <i>Syphilis douteuse</i> :    |                         |          |                      |                   |       |
| Maladies générales diverses ..... | 29                      | 10       | 29                   | 1                 | 30    |
| Chancres (Ducrey) .....           | 0                       | 0        | 1                    | 0                 | 1     |
| Dermatoses-Syphilis ? .....       | 2                       | 1        | 0                    | 0                 | 0     |

des d'hémolyse et qui, d'ailleurs, n'a donné, avec le Kahn et le Meinicke, qu'un résultat très faible.

Nous devons parler aussi d'une récidive secondaire dans laquelle des syphilides palmo-plantaires se sont accompagnées d'une réaction de Kahn positive et d'un Bordet-Wassermann douteux. Ceci a fait que le pourcentage de la syphilis secondaire ne soit pour le Bordet-Wassermann que de 96,29 % alors que le Kahn en avait 100 %.

La plus grande partie des autres discordances proviennent des syphilis en traitement au cours desquelles, comme dans la période pré-sérologique de l'infection, le sérum humain est en voie de transformations rapides qui occasionnent des discordances passagères dans les réactions.

Disons, enfin, que les discordances qu'on trouve dans le groupe des syphilis douteuses (maladies diverses) appartiennent à ces syphilis anciennes pour lesquelles la réaction de Kahn s'est montrée, en général, plus sensible que le Bordet-Wassermann.

Quant aux discordances partielles, on voit qu'elles se neutralisent sensiblement sur notre tableau et dans chacune des manifestations de l'infection syphilitique, ne s'opposant pas, en conséquence, à la comparaison des deux réactions.

\*  
\*\*

Notre étude, toujours comparative, se porte cette fois sur 1.382 sérums examinés également par le Kahn standard et par la réaction de Bordet-Wassermann, mais avec l'emploi dans cette dernière, d'une dilution au 1/200<sup>e</sup> et non plus au 1/50<sup>e</sup> de l'antigène.

Le tableau ci-contre (N<sup>o</sup> III) indique, comme il a été fait pour l'antigène au 1/50<sup>e</sup>, d'une part, le nom-

TABLEAU III

COMPARAISON ENTRE LA RÉACTION DE BORDET-WASSERMANN

B.-W. = Antigène au 1/200

|                                   | NOMBRE<br>de sérums<br>examinés | RÉSULTATS POSITIFS<br>(+ + + , + + , +) |      | POURCENTAGE<br>de sensibilité |        |
|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------|------|-------------------------------|--------|
|                                   |                                 | Kahn                                    | B.W. | Kahn %                        | B.W. % |
|                                   |                                 |                                         |      |                               |        |
| I. <i>Syphilis certaine</i> :     |                                 |                                         |      |                               |        |
| S. primaire non traitée .....     | 27                              | 22                                      | 19   | 81,48                         | 70,37  |
| S. secondaire } non traitée ..... | 21                              | 21                                      | 21   | 100                           | 100    |
| S. tertiaire .....                | 190                             | 58                                      | 48   | 30,52                         | 25,26  |
| Parasymphilis .....               | 27                              | 21                                      | 21   | 77,77                         | 77,77  |
| S. latente .....                  | 98                              | 68                                      | 76   | 69,38                         | 77,55  |
| S. héréditaire .....              | 157                             | 44                                      | 45   | 28,02                         | 28,66  |
|                                   | 46                              | 8                                       | 7    | 17,38                         | 15,21  |
|                                   | 566                             | 242                                     | 237  | 42,75                         | 41,87  |
| II. <i>Syphilis douteuse</i> :    |                                 |                                         |      |                               |        |
| Maladies générales diverses ..... | 619                             | 64                                      | 50   | 10,33                         | 8,07   |
| Chancres (Ducrey) .....           | 20                              | 2                                       | 0    | 10,                           | 0      |
| Dermatoses-Syphilis ? .....       | 77                              | 7                                       | 6    | 9,09                          | 7,79   |
|                                   | 100                             | 0                                       | 0    | 0                             | 0      |
| III. Sérums de contrôle.....      | 816                             | 0                                       | 0    | 0                             | 0      |

bre de résultats franchement positifs fournis par chacune des deux réactions et d'autre, le pourcentage qui correspond à ces résultats suivant le nombre de sérums examinés.

En regardant ce tableau on constate que le Bordet-Wassermann l'emporte cette fois sur le Kahn standard dans les parasyphilis et la syphilis latente, avec une supériorité de plus de 6 % pour les premières, de plus de 0,60 % pour la seconde; et cette supériorité est d'autant plus éclatante qu'avec l'antigène au 1/50<sup>e</sup> le Bordet-Wassermann s'écartait de plus de 5 % du Kahn dans ces deux variétés de syphilis.

On voit aussi que le Bordet-Wassermann conserve ses pourcentages égaux avec ceux du Kahn dans les syphilis tertiaire et secondaire (100 %) et qu'il les améliore beaucoup dans la syphilis primaire et dans la syphilis douteuse.

La sensibilité de la réaction de Bordet-Wassermann se trouve donc considérablement augmentée par la méthode de M. Demanche quand on passe de la dilution au 1/50<sup>e</sup> de l'antigène à celle au 1/200<sup>e</sup>; et cette augmentation se montre d'une façon particulière dans le groupe des parasyphilis, ainsi que dans les syphilis latentes.

Alors que le pourcentage des résultats positifs obtenu avec le Kahn standard sur 566 sérums provenant de sujets syphilitiques a été :

Pour la syphilis primaire : 81,48 % ;

Pour la syphilis secondaire : 100 % ;

Pour la syphilis tertiaire : 77,77 % ;

Pour les parasyphilis : 69,38 % ;

Pour la syphilis latente, 28,02 %.

Pratiquée avec l'antigène dilué au 1/200<sup>e</sup>, la réac-

tion de Bordet-Wassermann par la méthode de M. Demanche nous a donné les résultats suivants :

Dans la syphilis primaire : 70,37 %;

Dans la syphilis secondaire : 100 %;

Dans la syphilis tertiaire : 77,77 %;

Dans les parasyphilis : 77,55 %;

Dans la syphilis latente : 28,66 %.

Sur le total de sérums examinés avec l'antigène au 1/200<sup>e</sup> cette méthode nous a montré avec le Kahn standard un écart moyen de 0,88 %, alors qu'avec l'antigène au 1/50<sup>e</sup>, il a été de 5,3 %.

Quant à la spécificité de la réaction, elle s'est encore affirmée par les résultats complètement négatifs que nous avons obtenus avec les sérums de contrôle.

\*\*  
\*\*

Dans cette série de réactions, les discordances totales ont été beaucoup moins nombreuses que dans celle que nous avons étudiée avec l'antigène dilué au 1/50<sup>e</sup>. (Voir tableau IV.)

Parmi elles, nous devons encore signaler deux chancres mixtes pour lesquels les méthodes d'hémolyse pratiquées furent toujours négatives alors que le Kahn présentait une croix. D'autres proviennent des syphilis anciennes, ces dernières étant quelquefois très résistantes aux réactions de floculation et difficiles à dépister par les méthodes d'hémolyse, confirmant ainsi l'opinion de M. Demanche, que les modifications produites dans le sang par le tréponème ne sont pas toujours identiques, mais qu'elles peuvent rendre le sérum humain plus sensible à tel groupe de réactions qu'à tel autre.

Nous n'insisterons plus sur ces discordances, on les

TABLEAU IV

DISCORDANCES ENTRE LA RÉACTION DE BORDET-WASSERMANN  
PAR LA MÉTHODE DE M. DEMANCHE ET LA RÉACTION STANDARD DE KAHN

B.-W. = Antigène à 1/200

|                                           | DISCORDANCES PARTIELLES |          | DISCORDANCES TOTALES |                   | Total |
|-------------------------------------------|-------------------------|----------|----------------------|-------------------|-------|
|                                           | K > B.W.                | B.W. > K | Kahn positif seul    | B.W. positif seul |       |
| I. <i>Syphilis certaine</i> :             |                         |          |                      |                   |       |
| <i>S.</i> primaire non traitée .....      | 3                       | 1        | 2                    | 0                 | 2     |
| { non traitée .....                       | 0                       | 2        | 0                    | 0                 | 0     |
| <i>S.</i> secondaire { en traitement .... | 4                       | 10       | 9                    | 0                 | 9     |
| <i>S.</i> tertiaire .....                 | 1                       | 4        | 0                    | 1                 | 1     |
| Parasymphilis .....                       | 1                       | 37       | 2                    | 4                 | 6     |
| <i>S.</i> latente .....                   | 5                       | 18       | 6                    | 0                 | 6     |
| <i>S.</i> héréditaire .....               | 0                       | 5        | 1                    | 0                 | 1     |
| II. <i>Syphilis douteuse</i> :            |                         |          |                      |                   |       |
| Maladies générales diverses .....         | 6                       | 14       | 15                   | 1                 | 16    |
| Chancres (Ducrey) .....                   | 0                       | 0        | 2                    | 0                 | 2     |
| Dermatoses-Syphilis ? .....               | 1                       | 1        | 0                    | 0                 | 0     |

observe aussi bien du côté des réactions de floculations que du côté de celles d'hémolyse, car chacune de ces méthodes peut donner des résultats positifs alors que l'autre reste négative.

Ce que nous avons voulu montrer par cette étude, c'est que la pratique du Bordet-Wassermann par la méthode de M. Demanche permet à cette réaction avec des facilités de technique considérables de déceler de la façon la plus régulière la présence de la réagine syphilitique dans les sérums.

Cette méthode représente un grand progrès en sérologie syphilitique ; elle doit sa perfection à ce que chacun des réactifs y intervient soigneusement préparé et rigoureusement réglé par rapport aux autres, à ce que chacune des conditions d'expérience y est étudiée et précisée, et enfin à ce que chaque manœuvre de l'opérateur y est combinée pour qu'au moment de l'épreuve tout se dirige vers la sensibilité de la réaction et vers la précision des résultats.

---

## CONCLUSIONS

I. — Bien que les réaction de floculation directe gardent la première place dans le sérodiagnostic de la syphilis, celles de fixation du complément se sont encore perfectionnées depuis la Conférence de Sérologie de Montevideo.

II. — Un de ces derniers perfectionnements, la méthode de M. Demanche, enrichit la sérologie de la syphilis d'une technique du Bordet-Wassermann des plus spécifiques et des plus régulières.

III. — Par ses principes directeurs, elle possède une haute sensibilité et une grande précision; par la simplicité de son exécution, elle offre des avantages de pratique considérables; par ses résultats, enfin, elle est tout à fait comparable à la réaction standard de Kahn.

IV. — Elle mérite, en conséquence, d'être connue et pratiquée dans les laboratoires à côté des réactions de floculation directe, leur association ne pouvant que mieux assurer le diagnostic de l'infection syphilitique.

Vu : *Le Doyen,*

A. ROUSSY

Vu : *Le Président de Thèse,*

TANON

Vu et permis d'imprimer :

*Le Recteur de l'Académie de Paris,*

CHARLÉTY

## BIBLIOGRAPHIE

Société des Nations, N° spécial. Rapport de la Conférence de Montevideo, 1931.

DEMANCHE. — Précis de Technique sérodiagnostic de la syphilis (*sous presse*).

DEMANCHE. — Récents progrès de la réaction de Bordet-Wassermann, *Presse méd.*, 10 janvier 1934.

DEMANCHE. — La Fonction antigénique des lipoides, *Presse méd.*, 13 juillet 1931.

DEMANCHE. — Valeur de la réaction de Kahn pour le sérodiagnostic de la syphilis, *Bull. de la Soc. Française de Dermatologie*, n° 4, avril 1929.

DEMANCHE. — Les principes directeurs de la réaction de Wassermann, *Diagnostica e tecnica di Laboratorio*, Vol. avril 1935.

SACHS, A. KLOPSOCK u. A. J. WEIL. — *Deutsche méd. Woch.*, n° 15 u. 25, 1925.

RUBESTEIN. — *Précis de sérologie et de serodiagnostic*.

JANSELME. — *Traité de la syphilis*, Dernière éd., 1935.



